

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2001年11月29日 (29.11.2001)

PCT

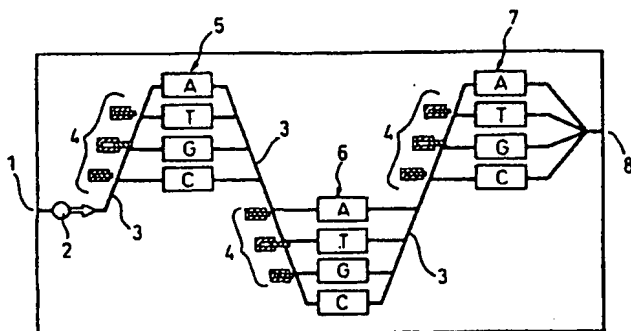
(10) 国際公開番号
WO 01/90225 A1

- (51) 国際特許分類: C08G 85/00, (72) 発明者; および
C07H 21/00, C07K 1/04 // C12M 1/00 (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 鷺津正夫
(21) 国際出願番号: PCT/JP01/04231 (WASHIZU, Masao) [JP/JP]; 〒606-8416 京都府京都市
(22) 国際出願日: 2001年5月21日 (21.05.2001) 左京区浄土寺上馬場町119 セラヴィー119-402
(25) 国際出願の言語: 日本語 Kyoto (JP). 黒澤 修 (KUROSAWA, Osamu) [JP/JP];
(26) 国際公開の言語: 日本語 〒612-0842 京都府京都市伏見区深草大亀谷大谷町
(30) 優先権データ: 特願2000-150065 2000年5月22日 (22.05.2000) JP 7-1 グルミエール大谷201号 Kyoto (JP).
(74) 代理人: 石田 敬, 外 (ISHIDA, Takashi et al.); 〒
105-8423 東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37
森ビル 骨和特許法律事務所 Tokyo (JP).
(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式 (81) 指定国 (国内): CA, JP, US.
会社 アドバンス (KABUSHIKI KAISYA ADVANCE) (84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE,
[JP/JP]; 〒103-8354 東京都中央区日本橋小舟町5番7号 Tokyo (JP). DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).

[続葉有]

(54) Title: NOVEL METHOD FOR FORMING POLYMER PATTERN

(54) 発明の名称: 新規ポリマー・パターンの作成法



(57) Abstract: A method for forming a combinatorial polymer pattern, which comprises immersing a particulate carrier in monomer addition reactors successively in accordance with a predetermined order using a particle transporting means, to thereby prepare a particle having a polymer having a predetermined sequence bonded thereto, and arranging such particles systematically. The method is practiced by using a plurality of reactors, each of which is provided for a specific monomer, a device for controlling the transfer of particles between the reactors, and a device for arranging particles on a substrate.

(57) 要約:

本発明は、粒子移送手段により、担体粒子をモノマー付加反応槽に特定の順番に従って浸漬することにより、表面に特定配列のポリマーが結合した粒子を得、これを基板上に規則的に配列することにより、コンビナトリアルなポリマーパターンを得る方法に関する。本発明の方法は、モノマー毎に設けられた複数の反応槽と、これらの間の担体粒子の移動を制御する装置、および粒子を基板上に配列する装置を用いて実施される。

WO 01/90225 A1

CC17



添付公開書類:
— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される
各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイダンスノート」を参照。

明 細 書

新規ポリマー・パターンの作成法

技術分野

本発明は、新規ポリマーパターン作成法に関する。

背景技術

DNA 上の特定の塩基配列を検出する手法として、基板上のオリゴヌクレオチドパターンを用いる、いわゆるDNA チップがある。その原理は次のようである。1) 基板上にさまざまな配列を持つオリゴヌクレオチド（塩基を数個～20個程度持つDNA）を2次元アレー状にパターンニングしておき、2) 蛍光プローブをつけたDNA 試料をこのチップ上に撒き、3) 蛍光顕微鏡下で、どの位置に結合するかを見る。DNA の結合は相補性により生ずるので、もし、試料DNA がある位置に結合したとすると、結合した位置に固定されていた配列と相補的な配列が試料DNA 上に存在するはずである。すなわち、パターン上の結合位置から試料DNA の持つ配列が検出できることになる。

基板上にオリゴヌクレオチドパターンを作成する手法としては、金属ピン等を用いてガラス基板に1つずつ丹念に塗布していく方法、インクジェットを用いる方法、光パターンニングにより部位選択的に化学合成を行う方法などが開発されている。

通常、1つの基板の上には数百種類以上のオリゴヌクレオチドがパターン化されて作成される。塗布する方法やインクジェットを用いる方法では、パターンの形成自体は単純であるものの、この数だけのオリゴヌクレオチドをあらかじめ化学合成しておかなければならず、このためのコストが非常に高くなるところが問題点とされて

いる。これに対し、光パターニングにより基板上に直接合成していく手法は、4種類の塩基A, G, C, Tに対応する4種類のモノマーの重合により達成されるので試薬の数は4種類で済む。しかしながら、1塩基の合成には4枚のフォトマスクが必要であるので、たとえば20merのオリゴヌクレオチドの合成には、80枚ものフォトマスクが必要となり、コストがかさむのみならず、マスク合わせにも技術的な困難がある。また、通常の固相合成の収率が99%程度と高いのに対し、光パターニングによる合成の収率が95%程度と低いことも、最終的にできるオリゴヌクレオチドの純度を低いものにする。

また、上記のDNAチップ同様、多数のポリペプチドからなるパターンを基板上に用意し、試料分子がどの位置に結合するかを観察することにより、試料分子と多数のポリペプチドとのアフィニティーを一括して検査する手法も存在するが、これに用いるポリペプチドパターンの作成にも、上記のオリゴヌクレオチドと全く同じ問題が存在する。

発明の開示

本発明においては、オリゴヌクレオチドやポリペプチドなど、モノマーの配列により特徴づけられるポリマーのパターンの作成において、用いるモノマーそれぞれに対応する溶液槽を準備し、担体となる粒子を、作成したい配列の順序に従ってそれぞれの溶液槽に順次浸漬していくことにより、粒子表面にポリマーを固相合成する。浸漬していく順序を様々に変えることにより、様々な配列を有するポリマーを固定した粒子を得、これを基板上に配列・固定することにより、基板上にポリマーパターンを作成する。

本発明の1の態様においては、複数の種類のモノマーをいろいろ

な順列で合成した多種類のポリマーを基板上に特定のパターンで固定するコンビナトリアルなポリマーパターン作成法であって、以下のステップ：

(1) それぞれのモノマーを入れた反応槽、上記反応槽の間の粒子搬送制御装置、上記粒子を基板上に配列する装置を用意し、

(2) 担体として用いる粒子の移動を上記粒子搬送装置により制御して一定の順序に従って反応槽に浸漬していくことにより上記担体粒子表面に一定の配列を持つポリマーを合成し、そして

(3) ステップ(2)において得られた粒子を基板上に配列して、上記基板上に様々な配列を持つポリマーのパターンを形成する、を含む前記ポリマーパターン作成法が提供される。

本発明の他の態様においては、前記ポリマーはオリゴヌクレオチドである。

本発明の他の態様においては、前記ポリマーはペプチドである。

本発明の他の態様においては、前記担体粒子は球形である。

本発明の1の態様においては、前記担体粒子は磁性体である。

本発明の好ましい態様においては、前記粒子搬送は基板上に設けられた管路あるいはガイド溝に沿って行われる。

本発明の1の態様においては、前記粒子搬送は磁性体担体粒子の磁気力による移送により行われる。

本発明の1の態様においては、前記基板上に分岐のある管路あるいはガイド溝とそこでの粒子の運動を制御する偏向装置が設けられ、粒子のたどる道筋を切り替えることにより反応槽に浸漬する順序が選択される。

本発明の1の態様においては、前記担体粒子を基板上に配列するために規則的な凹凸構造をもつ基板が用いられる。

図面の簡単な説明

図 1 は、本発明によるポリマーの合成を示す概略図である。

図 2 は、本発明によるポリマーパターンの作成を示す概略図である。

発明を実施するための最良の形態

図 1 は、本発明の実施例を、A, T, G, C の 4 種類のモノマーを用いて、3 つのモノマーの重合からなるポリマーを合成する場合について図示したものである。基板上に、4 種類のモノマーに対応する反応槽を 3 セット設け、かつ、この間をつなぐガイド溝、および溝分岐での担体粒子の進行方向を制御する偏向板アクチュエータを設ける。磁性体である担体粒子は、入り口から入り、基板裏側に設けられた図中右方向へと移動する磁石によりガイド溝に沿ってころがり、右側へと移動していく。図の場合、G 反応槽の左側の偏向板が突出しているため、粒子はこの溝へと偏向され、反応槽に入り、粒子表面にまず G を付加される。ここから出た粒子は、再び磁石により溝に沿って右側へと移動し、偏向板により偏向されて、次は T 反応槽に入り、ここで T を付加される。同様にして、G 反応槽を経て出口に出れば、担体粒子表面に、 $-G-T-G$ の配列が合成されることになる。偏向板による偏向をスイッチングすれば任意の配列を持つポリマーを極めてフレキシブルに合成することができる。このようにして得られる様々の配列を持つポリマーの固定された粒子を、基板上に並べて固定すれば、基板上にポリマーのパターンが得られることになる。

使用する担体粒子としては、ころがりやすく磁界による駆動が容易な、たとえば直径 0.5~1 mm の磁性ステンレス球形粒子が例示されるが、これに限定されるものではない。

図 1 の例において、ポリマー槽を 3 組でなく多数組並べれば、任意の長さのポリマーが合成される。また、この実施例では、粒子の動きを簡略化した説明とするため、ポリマーの長さに対応する数の反応槽セットを設けたが、反応槽を 1 組だけとし、その間をある順序に従って粒子が移動するという構成でも全く同様の効果が得られる。

図 2 は、図 1 のようにして作成された様々なモノマー配列を有する粒子を、周期的凹凸構造を持つ基板の上に接着して得る、本発明によるポリマーパターンの配置例である。

本発明によるポリマー合成およびポリマーパターンの作成法によれば、使用するモノマーの種類だけの数の試薬から、それらの組み合わせによるポリマーを極めてフレキシブルに合成し、かつ、それらが基板上の特定位置に配列されたポリマーパターンを得ることができる。

請 求 の 範 囲

1. 複数の種類のモノマーをいろいろな順列で合成した多種類のポリマーを基板上に特定のパターンで固定するコンビナトリアルなポリマーパターン作成法であって、以下のステップ：

(1) それぞれのモノマーを入れた反応槽、上記反応槽の間の粒子搬送制御装置、上記粒子を基板上に配列する装置を用意し、

(2) 担体として用いる粒子の移動を上記粒子搬送装置により制御して一定の順序に従って反応槽に浸漬していくことにより上記担体粒子表面に一定の配列を持つポリマーを合成し、そして

(3) ステップ(2)において得られた粒子を基板上に配列して、上記基板上に様々な配列を持つポリマーのパターンを形成する、を含む前記ポリマーパターン作成法。

2. 前記ポリマーがオリゴヌクレオチドである、請求の範囲第1項記載のポリマーパターン作成法。

3. 前記ポリマーがペプチドである、請求の範囲第1項記載のポリマーパターン作成法。

4. 前記担体粒子が球形である、請求の範囲第1項記載のポリマーパターン作成法。

5. 前記担体粒子が磁性体である、請求の範囲第1項記載のポリマーパターン作成法。

6. 前記粒子搬送を基板上に設けられた管路あるいはガイド溝に沿って行う、請求の範囲第1項記載のポリマーパターン作成法。

7. 前記粒子搬送を磁性体担体粒子の磁気力による移送により行う、請求の範囲第1項記載のポリマーパターン作成法。

8. 前記基板上に分岐のある管路あるいはガイド溝とその中での粒子の運動を制御する偏向装置を設け、粒子のたどる道筋を切り替

えることにより反応槽に浸漬する順序を選択する、請求の範囲第1項記載のポリマーパターン作成法。

9. 前記担体粒子を基板上に配列するために規則的な凹凸構造をもつ基板を用いる、請求の範囲第1項記載のポリマーパターン作成法。

Fig.1

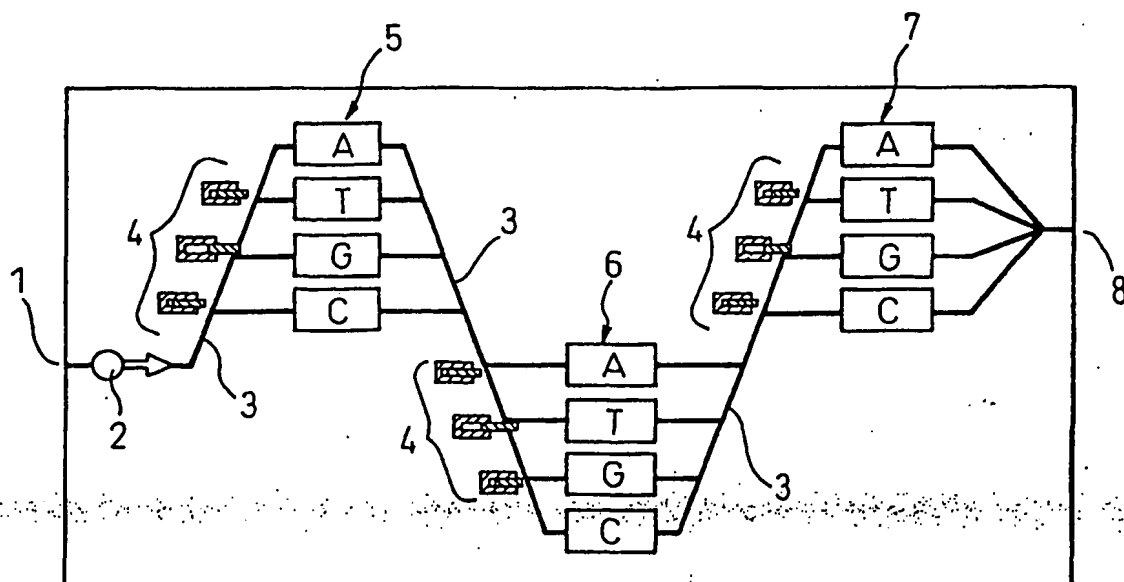
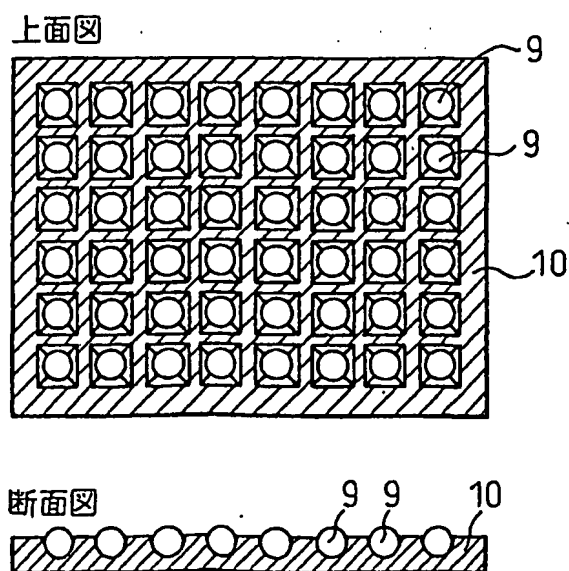


Fig.2



参照番号の一覧表

- 1 …担体粒子入口
- 2 …担体粒子
- 3 …ガイド溝
- 4 …偏向板およびアクチュエータ
- 5 …反応槽セット（第1組）
- 6 …反応槽セット（第2組）
- 7 …反応槽セット（第3組）
- 8 …担体粒子出口
- 9 …特定配列が固定された担体粒子
- 10 …凹凸構造を持つ基板

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/04231

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C08G85/00, C07H21/00, C07K1/04 // C12M1/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C08G85/00, C07H21/00, C07K1/04, C12M1/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1926-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2001
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2001	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2001

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAS ONLINE

WPI/L

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO, 98/04740, A1 (Northwestern University), 05 February, 1998 (05.02.98), Claims; Figs. 17A to 17E & JP, 2000-516460, A & AU, 9740434, A & EP, 918885, A1	1-9
A	GB, 2319838, A (Hewlett-Packard Company), 03 June, 1998 (03.06.98), Claims; Figs. 1, 2 & JP, 10-185923, A & DE, 19740263, A1	1-9
A	US, 5812272, A (Hewlett-Packard Company), 22 September, 1998 (22.09.98), Claims; Figs. 1a to 1f & JP, 11-44647, A & DE, 19731479, A1	1-9
PA	JP, 2000-249706, A (Hokuto Kagaku Sangyo K.K., Iatron Lab. Inc.), 14 September, 2000 (14.09.00), Claims; Figs. 1 to 2 (Family: none)	1-9

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
02 July, 2001 (02.07.01)Date of mailing of the international search report
10 July, 2001 (10.07.01)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/04231

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PA	WO, 00/61198, A1 (Hitachi Chemical Co., Ltd.), 19 October, 2000 (19.10.00), Claims; Figs. 8, 9 & JP, 2000-346842, A	1-9
A	WO, 93/09668, A1 (Affymax Technology N.V.), 27 May, 1993 (27.05.93), Claims; Fig. 10 & JP, 7-506561, A & AU, 9331481, A & EP, 624059, A1 & US, 5384261, A & EP, 916396, A2 & EP, 972564, A2 & EP, 1086742, A1	1-9
A	GB, 2138821, A (California Institute of Technology), 31 October, 1984 (31.10.84), Claims; Figs. 1A, 1B & JP, 59-205395, A & DE, 3415014, A & FR, 2544720, A & SE, 8402195, A & CA, 1220747, A	1-9
A	GB, 2118189, A (Shimadzu Corporation), 26 October, 1983 (26.10.83), Claims; Fig. 1 & JP, 58-157799, A & DE, 3306770, A & CA, 1199776, A	1-9

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl' C08G85/00 C07H21/00 C07K1/04 // C12M1/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl' C08G85/00 C07H21/00 C07K1/04 C12M1/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1926-1996年
 日本国公開実用新案公報 1971-2001年
 日本国実用新案登録公報 1996-2001年
 日本国登録実用新案公報 1994-2001年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAS ONLINE
WPI/L

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	WO 98/04740 A1 (NORTHWESTERN UNIVERSITY) 5. 2月. 1998 (05. 02. 98), 特許請求の範囲, 図17A-17E&JP 2000-516460 A&AU 9740434 A&EP 918885 A1	1-9
A	GB 2319838 A (Hewlett-Packard Company) 3. 6月. 1998 (03. 06. 98), 特許請求の範囲, 図1, 2&JP 10-185923 A&DE 19740263 A1	1-9

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
 「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

02. 07. 01

国際調査報告の発送日

10.07.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)
 郵便番号100-8915
 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

天野 宏樹



4 J

9272

電話番号 03-3581-1101 内線 3456

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	US 5812272 A (Hewlett-Packard Company) 22. 9月. 1998 (22. 09. 98), 特許請求の範囲, 図1a-図1f & JP 11-44647 A&DE 19731479 A1	1-9
PA	JP 2000-249706 A (北斗科学産業株式会社, 株式会社ヤトロン) 14. 9月. 2000 (14. 09. 00), 特許請求の範囲, 図1-図2 (ファミリーなし)	1-9
PA	WO 00/61198 A1 (HITACHI CHEMICAL CO., LTD.) 19. 10月. 2000 (19. 10. 00), 特許請求の範囲, 図8, 図9 & JP 2000-346842 A	1-9
A	WO 93/09668 A1 (AFFYMAX TECHNOLOGY N.V.) 27. 5月. 1993 (27. 05. 93), 特許請求の範囲, 図10 & JP 7-506561 A&AU 9331481 A&EP 624059 A1 & US 5384261 A&EP 916396 A2 & EP 972564 A2 & EP 1086742 A1	1-9
A	GB 2138821 A (California Institute of Technology) 31. 10月. 1984 (31. 10. 84), 特許請求の範囲, 図1A, 図1B & JP 59-205395 A&DE 3415014 A&FR 2544720 A&SE 8402195 A&CA 1220747 A	1-9
A	GB 2118189 A (Shimadzu Corporation) 26. 10月. 1983 (26. 10. 83), 特許請求の範囲, 第1図 & JP 58-157799 A&DE 3306770 A&CA 1199776 A	1-9